Peran Protein Pita 3 pada Membran Sel Darah Merah Manusia

Anna Maria Dewajanti

Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Krida Wacana
Alamat Korespondensi Jl.Arjuna Utara No.6 Jakarta Barat 11510

Abstrak

Protein pita 3 merupakan protein intrinsik atau protein integral utama membran sel darah merah. Domain sitoplasma (hidrofilik) protein pita 3 berinteraksi dengan spektrin yang diperantarai oleh ankirin. Protein pita 3 dan protein sitoskeleton mempunyai fungsi untuk stabilitas membran sel darah merah. Protein-protein ini sangat menentukan kemampuan sel darah merah untuk melalui kapiler yang lebih kecil dari diameternya agar tidak mengalami kerusakan. Protein pita 3 juga penting sebagai protein penukar anion, yaitu ion HCO_3^- dan Cl^- melalui membran sel darah merah. Melalui peran protein pita 3 sebagai penukar anion tersebut, sel darah merah melakukan fungsi transpor CO_2.

Kelainan protein pita 3 dapat mempengaruhi fungsinya, baik sebagai penukar anion maupun dalam mempertahankan stabilitas membran sel darah merah, sehingga dapat mengganggu homeostasis sel darah merah serta berpengaruh pada kemampuan sel darah merah untuk mempertahankan diri agar tidak mengalami kerusakan pada saat bersirkulasi pada kapiler yang sempit. Dengan demikian, kelainan pada protein pita 3 membran sel darah merah juga berkaitan dengan meningkatnya destruksi dini sel darah merah dan terjadinya anemia.

Kata kunci : protein pita 3, membran sel darah merah, protein penukar anion

The Role of Band 3 Protein in Human Red Blood Cells Membrane

Abstract

Band 3 protein is an intrinsic protein or major integral membrane protein of red blood cells, cytoplasmic domain (hydrophilic) the proteins interact with spektrin mediated by ankirin. Band 3 and sitosceleton protein, both have function for stability of red blood cell membrane. These proteins are crucial to the ability of red blood cells through capillaries smaller. Band 3 protein is also important as the anion exchanger. Through the role of protein band 3 as the anion exchanger, the red blood cells perform the function of transport CO2.

Abnormalities of the band 3 protein can affect its function, either as an anion exchanger as well as in maintaining the stability of the red blood cell membrane, so that it can interfere with red blood cell homeostasis and the effect on the ability of red blood cells to defend themselves so that no damage when circulating in the narrow capillaries. Thus, abnormalities in membrane band 3 protein red blood cells is also associated with increased premature destruction of red blood cells and the occurrence of anemia.

***Key words** : band 3 protein, red blood cell membrane, anion exchanger*

Pendahuluan

Protein pita 3 merupakan protein intrinsik atau protein integral utama membran sel darah merah. Protein ini mempunyai berat ± 95.000 D dan merupakan suatu glikoprotein (mengikat karbohidrat ± 7%). Persentase pita 3 dari berat total protein yang ada di membran adalah 25–30%. Protein ini dinamakan pita 3, karena dengan menggunakan elektroferosis SDS gel poliakrilamid terhadap membran sel darah merah manusia, protein ini tampak sebagai pita/*band* yang ketiga.[1-3] Stabilitas sel darah merah sangat dipengaruhi oleh keadaan dan fungsi protein sitoskeleton dan protein pita 3.[4] Domain sitoplasma (hidrofilik) protein pita 3 berinteraksi dengan spektrin yang diperantarai oleh ankirin.[2] Protein-protein ini sangat menentukan kemampuan sel darah merah untuk melalui kapiler yang lebih kecil dari diameternya agar tidak mengalami kerusakan.[1,4,5] Protein pita 3 juga penting sebagai protein penukar anion, yaitu ion HCO_3^- dan Cl^- melalui membran sel darah merah. Melalui peran protein pita 3 sebagai penukar anion tersebut, sel darah merah melakukan fungsi transpor CO_2.[1,2]

Kelainan protein pita 3 dapat mempengaruhi fungsinya, baik sebagai penukar anion maupun dalam mempertahankan stabilitas membran sel darah merah, sehingga dapat mengganggu homeostasis sel darah merah serta berpengaruh pada kemampuan sel darah merah untuk mempertahankan diri agar tidak mengalami kerusakan pada saat bersirkulasi pada kapiler yang sempit. Dengan demikian, kelainan pada protein pita 3 membran sel darah merah juga berkaitan dengan meningkatnya destruksi dini sel darah merah dan terjadinya anemia.[2,6,7]

Protein Membran Sel Darah Merah

Membran biologis tersusun dari suatu dwilapis lipid, protein dan sejumlah kecil karbohidrat (Gambar1). Pada umumnya membran sel berfungsi untuk mengangkut molekul masuk dan keluar sel, transduksi sinyal, mempertahankan bentuk sel, dan interaksi sel dengan sel.[4] Secara umum, protein membran dapat dibagi dalam dua bagian yaitu protein ekstrinsik dan protein intrinsik.

Protein Ekstrinsik

Protein ekstrinsik atau perifer merupakan protein penyangga membran atau sitoskeleton, terletak di sisi sitosol membran sel darah merah. Protein ekstrinsik dapat dipisahkan dari membran, misalnya dengan menggunakan larutan garam berkekuatan ionik tinggi, dengan bahan kelator logam atau dengan perubahan pH. Protein ekstrinsik berkaitan dengan membran melalui ikatan hidrogen dan ikatan ionik.[4]

Protein ekstrinsik terdiri atas spektrin, ankirin, aktin, protein pita 4.1 dan protein kecil lainnya. Protein-protein ini memainkan peran penting untuk mempertahankan bentuk bikonkaf sel darah merah serta fleksibilitas membran.[4]

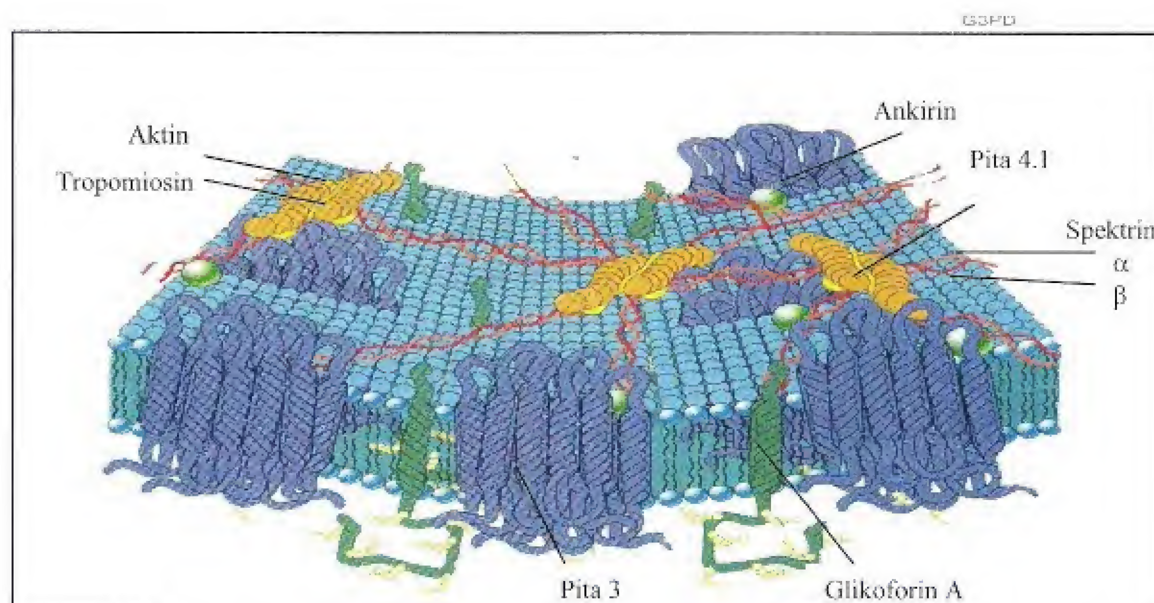
Protein membran sel darah merah diberi nomor sesuai dengan nomor urutan pita-pita polipeptida, hasil pemisahan protein membran dengan elektroforesis gel poliakrilamid-SDS. Protein pita 1 dan pita 2 merupakan suatu protein ekstrinsik membran sel darah merah yang terletak pada sitosol, yang disebut spektrin.[8]

Spektrin merupakan protein mayor dari komponen membran skeleton sel darah merah. Spektrin terdiri atas dua heterodimer yaitu spektrin α (pita 1), dengan berat molekul 240.000, dan spektrin β (pita 2), dengan berat molekul 220.000. Spektrin α memiliki tempat pengikatan untuk spektrin β , sedangkan spektrin β memiliki tempat pengikatan untuk ankirin. Spektrin berjumlah kira-kira 25-30% dari seluruh protein membran.[8]

Ankirin (pita 2.1) merupakan protein ekstrinsik dengan BM 215.000 yang menghubungkan ikatan spektrin β dengan pita 3.[8,10] Pada elektroforesis, ankirin tampak sebagai pita 2.1, 2.2, 2.3.

Protein 4.1 merupakan suatu protein ekstrinsik dengan BM 80.000. Protein ini berjumlah sekitar 6% dari seluruh protein membran.[8]

Protein 4.2 merupakan protein ekstrinsik membran yang berada pada sitosol dekat dengan sisi sitosol protein pita 3.[8] Protein ini belum banyak dipelajari, namun mungkin berinteraksi dengan protein pita 3.



Gambar 1. Skema Membran Sel Darah Merah[9]

Protein 4.9 merupakan protein ekstrinsik, dengan BM 48.000. Protein ini merupakan suatu fosfoprotein dan mungkin berfungsi sebagai protein pengikat aktin.[8]

Aktin tampak sebagai pita 5 dan merupakan protein sitoskeleton yang sebagai suatu monomer memiliki BM 42.000. Aktin membentuk suatu protofilamen aktin F yang terdiri atas 10-13 monomer.[8]

Protein Intrinsik

Protein intrinsik atau protein integral merupakan protein yang letaknya tertanam di dalam lapisan lipid membran. Umumnya protein intrinsik memiliki 3 domain yang spesifik, yaitu domain ekstraseluler, domain intramembran dan domain sitoplasma.

Domain ekstraseluler umumnya merupakan domain tempat terikatnya reseptor dan terglikosilasi. Domain intramembran bersifat sangat hidrofobik sehingga dapat terikat erat pada membran dan hanya dapat dipisahkan dari membran dengan menggunakan suatu bahan yang dapat merusak membran seperti larutan organik dan detergen.[8] Domain sitoplasma bersifat hidrofilik yang dapat berhubungan dengan protein-protein perifer. Dengan demikian protein intrinsik merupakan protein amfipatik.

Protein intrinsik yang utama pada membran sel darah merah adalah glikoforin dan protein penukar ion (protein pita 3). Glikoforin merupakan protein transmembran sel darah merah, terdapat pada stroma sel darah merah dan terdiri atas 60 % karbohidrat dan 40 % protein. Bagian kepala glikoforin bersifat hidrofil, kaya akan karbohidrat, mengandung antigen golongan darah dan berfungsi sebagai reseptor terhadap beberapa virus dan racun. Bagian ujung karboksil membentang ke dalam sitosol dan terikat pada protein 4.1 dan spektrin.[10,11]

Protein Pita 3

Protein pita 3 merupakan protein intrinsik atau protein integral utama membran sel darah merah. Protein ini mempunyai berat ± 95.000 D dan merupakan suatu glikoprotein (mengikat karbohidrat ± 7%). Persentase pita 3 dari berat total protein yang ada di membran adalah 25 – 30 %. Protein ini dinamakan pita 3, karena dengan menggunakan elektroferosis SDS gel poliakrilamid terhadap membran sel darah merah manusia, protein ini tampak sebagai pita / *band* yang ketiga.[1-3]

Dengan menggunakan teknik imunokimia atau teknik biologi molekuler, dapat ditemukan adanya protein pita 3 di dalam sel epitel ginjal, paru-paru dan usus, juga di hati, otak dan jantung, serta di sel-sel prekursor

eritrosit dan di sel B dan T. Protein pita 3 eritrosit dan non eritrosit ini merupakan produk dari 3 gen yang berbeda, yaitu gen AE1 (*anion exchanger*1), AE2, dan AE3, masing-masing gen mentranskripsi bentuk-bentuk mRNA yang berbeda pula dan berlokasi pada kromosom yang terpisah (kromosom 17, 7 dan 2). Domain hidrofobik dari produk ketiga gen AE ini mempunyai kemampuan menjalankan pertukaran anion melalui membran plasma.[1,2,12]

Ketiga gen tersebut mengekspresikan tiga protein yang berbeda: gen AE1 mengekspresikan protein AE1 yang ditemukan di sel darah merah dan ginjal; gen AE2 mengekspresikan protein AE2 yang ditemukan di berbagai jaringan; gen AE3 mengekspresikan protein AE3 yang ditemukan di otak, retina, dan hati.[1,2,12,13]

Protein pita 3 membran sel darah merah merupakan produk dari gen AE1, yang berlokasi pada kromosom 17_{q21} dengan panjang 17 ribu pasang basa (pb) yang terdiri dari 20 ekson dan 19 intron. Belum ada laporan tentang transkripsi gen AE1 manusia dalam sel eritrosit, tetapi telah diketahui pada bagian promotor transkripsi ini tidak ada kotak TATA atau kotak CCAAT dan mengandung sekuen-sekuen konsensus untuk tempat pengikatan beberapa faktor transkripsi.[2]

Protein pita 3 membran sel darah merah mengandung ±911 asam amino[11,14] dan menembus membran lipid dua lapis pada 14 tempat serta memiliki beberapa bagian yang menonjol ke luar sel membentuk struktur simpai (*loop*).[12] Protein pita 3 terbagi dalam dua domain dengan fungsi yang berbeda, yaitu domain N-terminal (sekitar 40 kD) dan domain C-terminal (sekitar 55 kD).[2,11,12]

Domain N-terminal protein pita 3 disebut juga domain sitoplasma, merupakan domain yang polar / terlarut dalam air, terletak intraseluler (mengarah ke dalam sitoplasma). Domain ini dapat dipisahkan dari membran sel dengan proteolisis.[2] Domain N-terminal mengikat komponen-komponen sitoskeleton membran sel darah merah (termasuk protein 4.1 , 4.2 dan ankirin) sehingga terlibat dalam fungsi rangka membran, enzim-enzim glikolitik (aldolase dan gliseraldehid 3-phosfat dehidrogenase) dan hemoglobin.[2,3,14]

Sel darah merah tidak mengalami kerusakan ketika melalui kapiler yang lebih kecil dari diameternya karena sel darah merah memiliki kemampuan untuk melentur yang disebut deformabilitas. Bentuk normal dan kemampuan deformabilitas sel darah merah ini dipertahankan oleh struktur protein rangka membran seperti aktin, spektrin, protein 4.1, protein 4.2 dan ankirin.[1,2] Protein pita 3 terlibat dalam menunjang fungsi protein rangka membran ini dengan adanya ikatan antara protein pita 3 dengan ankirin.[1,2] Protein 4.1 yang menstabilkan hubungan spektrin-aktin, mengikat protein pita 3 dengan afinitas yang rendah (agak longgar). Protein 4.2 dan ankirin juga mengikat domain sitoplasma dari protein pita 3 ini pada tempat yang terpisah.[2]

Domain C-terminal protein pita 3 disebut juga domain membran, merupakan domain yang tertanam atau berada di dalam lipid bilayer membran, bersifat hidrofobik, dan mempunyai fungsi memperantarai / sebagai media pertukaran anion inorganik melalui membran, terutama bikarbonat dan klorida.[2,3]

Diketahui protein pita 3 merupakan protein integral membran sel darah merah yang berfungsi sebagai protein penukar anion, yaitu pada transpor ion HCO_3^- dan Cl^- melalui membran sel darah merah sesuai dengan gradien konsentrasi. Sel darah merah melakukan fungsi transpor CO_2 melalui peran protein pita 3 sebagai penukar anion tersebut.[1,2]

Dalam, darah, CO_2 mengalami hidrasi menjadi asam karbonat (H_2CO_3) dengan bantuan enzim anhidrase karbonat. Pada pH netral, H_2CO_3 mudah berdisosiasi menjadi HCO_3^- dan H^+. Dengan demikian, CO_2 diangkut dalam darah dalam bentuk HCO_3^-.[1,2]

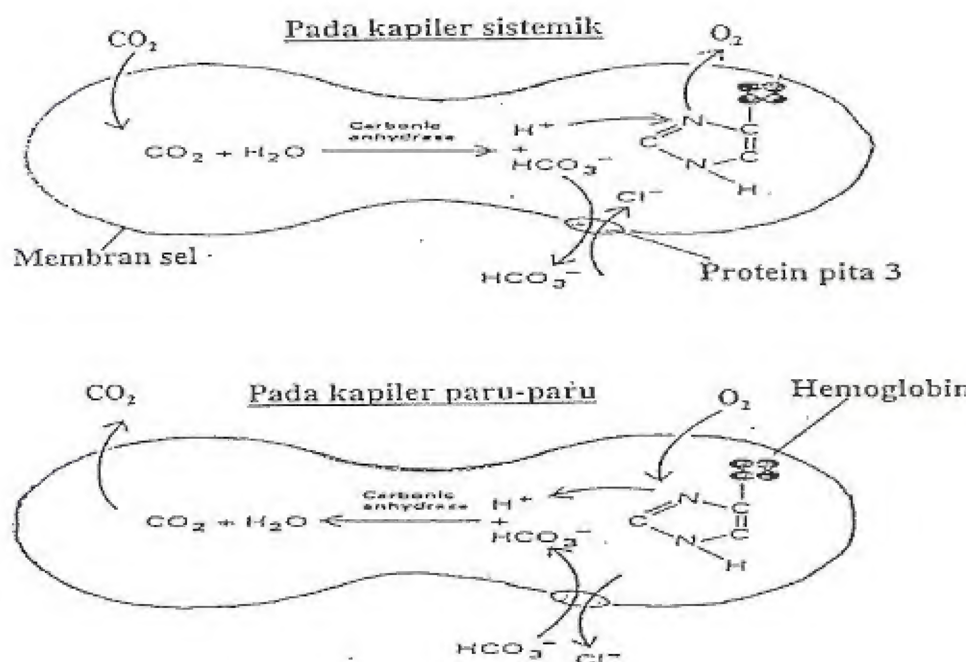
Di jaringan, CO_2 masuk ke dalam sel darah merah dan membentuk H_2CO_3. Sebagian H_2CO_3 keluar sel darah merah dan masuk ke plasma, sedangkan sebagian lagi membentuk HCO_3^-. Ion HCO_3^- yang terbentuk masuk ke dalam plasma sementara ion Cl^- masuk ke dalam sel darah merah. Pertukaran antara HCO_3^-, yang keluar dari sel darah merah, dengan Cl^-, yang masuk ke dalam sel darah merah terjadi melalui protein pita 3. Pada paru-paru, pertukaran anion melalui protein pita 3 tersebut terjadi dengan arah yang berkebalikan dengan pertukaran anion dalam jaringan (Gambar 2).[1,2]

Pertukaran anion yang diperantarai oleh protein pita 3 juga berperan pada regulasi asam–basa seperti yang terjadi pada sekresi asam dan reabsorbsi bikarbonat pada *tubulus colectivus* ginjal.[10] Protein pita 3 juga dapat berfungsi sebagai penanda sel darah merah yang sudah tua. Agregat protein pita 3 yang terbentuk pada sel darah merah yang sudah tua akan dikenal oleh sistem imunitas untuk segera menghancurkan sel tersebut.[1,2]

Laporan Penelitian Tentang Kejadian Polimorfisme Genetik Pita 3

Polimorfisme genetik protein pita 3 telah dilaporkan terjadi pada penderita ovalositosis, sferositosis, akantositosis herediter dan talassemia. Polimorfisme genetik tersebut menimbulkan terjadinya variasi protein pita 3.[7]

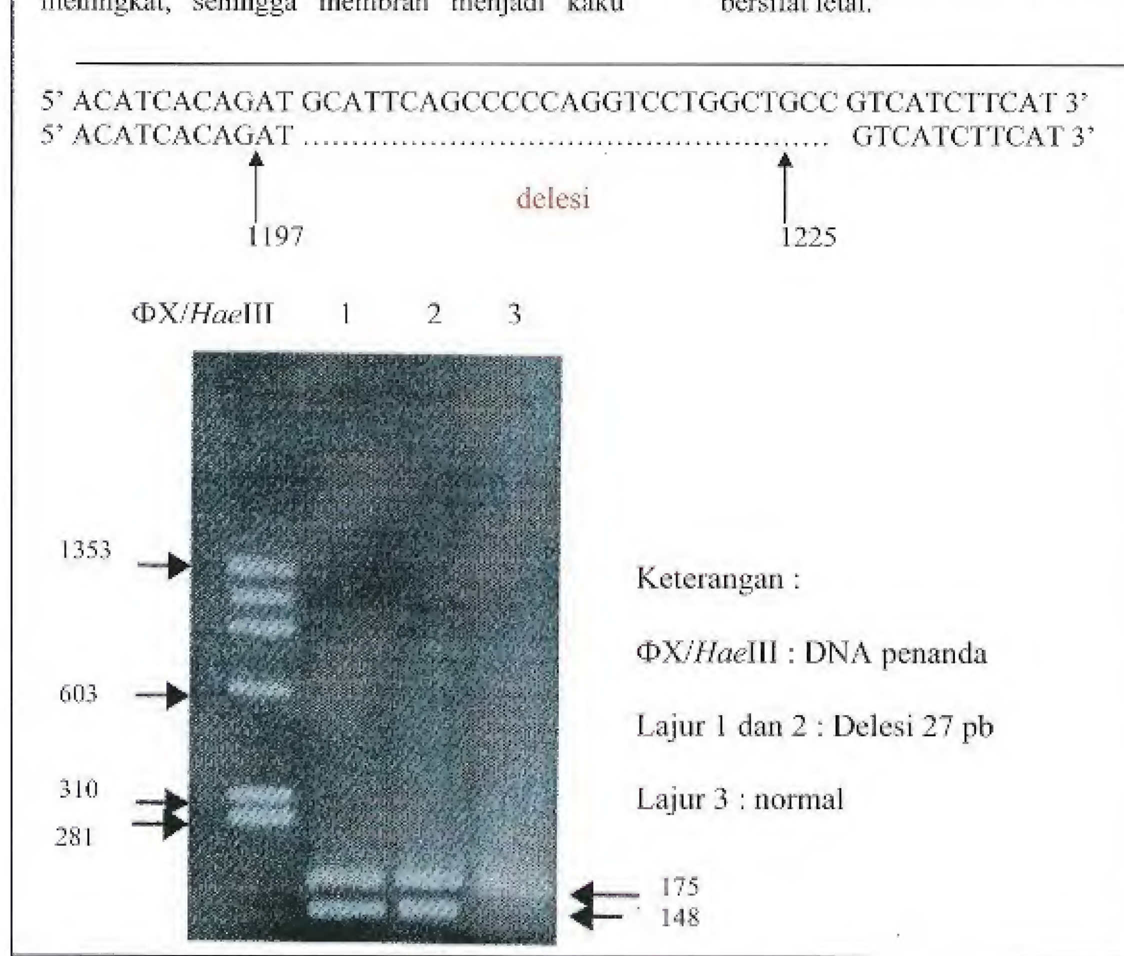
Ovalositosis merupakan kelainan sel darah merah yang ditandai oleh eritrosit berbentuk oval. Membran sel darah merah pada ovalositosis bersifat rigid, menyebabkan menurunnya kemampuan deformabilitas membran sel darah merah sehingga sel darah merah mudah pecah ketika melalui kapiler yang lebih kecil dari diameternya. Terdapat dua cacat molekul DNA yang ditemukan pada ovalositosis yaitu delesi 27 pasang basa (pb) pada ekson 11 gen AE1 yang menyebabkan hilangnya 9 asam amino pada protein pita 3 (*band 3*) dan substitusi pada basa nomor 56 dari adenin menjadi guanin.[7,15,16]



Gambar 2. Transpor CO_2 oleh Protein Pita 3[10]

Menurut penelitian Jarolim *et al.*, 1991, produk PCR menggunakan sepasang primer oligonukleotida P1 (5'– GGG CCCAGATGACCCTCTGC-3'; basa 1098 - 1117) dan P2 (5'-GCCGAAGGTGA TGGCGGGTG -3' ; basa 1272-1253) diperoleh DNA berukuran 175 pb dan 148 pb[13] (Gambar 3). Adanya produk PCR berukuran 148 pb memperlihatkan adanya delesi 27 pasang basa (9 asam amino) pada ovalositosis. Hilangnya 9 asam amino protein pita 3 pada ovalositosis tersebut tidak menyebabkan gangguan

pertukaran anion tetapi menyebabkan gangguan keseimbangan struktur dan gerak protein sitoskeleton sel darah merah karena mobilitas protein pita 3 menurun dan kekuatan ikatan antara protein pita 3 dengan protein sitoskeleton meningkat, sehingga membran menjadi kaku .[15,16] Gambaran hasil elektroforesis produk PCR tersebut memperlihatkan individu ovalositosis bergenotip heterozigot, sedangkan individu dengan genotip homozigot belum pernah ditemukan sampai saat ini karena diperkirakan bersifat letal.[17]



Gambar 3. Produk PCR Gen Protein Pita 3 pada Pasien Ovalositosis[16,17]

Sferositosis merupakan penyakit herediter yang dicirikan dengan anemia hemolitik dengan bentuk sel darah merah sferoid (berbentuk bola) dan mudah pecah (*fragile*). Bentuk sel yang sferoid ini disebabkan karena hilangnya daerah permukaan sel darah merah (berhubungan dengan volume intraseluler) karena hilangnya membran plasma secara progresif, sehingga mengakibatkan pula penurunan deformabilitas sel darah merah. Sel-sel sferoid ini secara selektif akan dihancurkan dalam limpa.[14,18,19] 10–20% kasus sferositosis mengalami defisiensi protein pita3 dan protein 4.2.[14] Mutasi-mutasi yang menyebabkan perubahan pada protein pita 3 khususnya domain sitoplasmanya, akan mengubah tempat pengikatannya (*binding site*) dengan protein 4.2.[18,20]

Polimorfisme pada penderita akantosis yang berupa substitusi prolin pada asam amino 868 menjadi leusin (Pro868→Leu) pada gen AE1 menyebabkan peningkatan aktivitas transpor anion.[7]

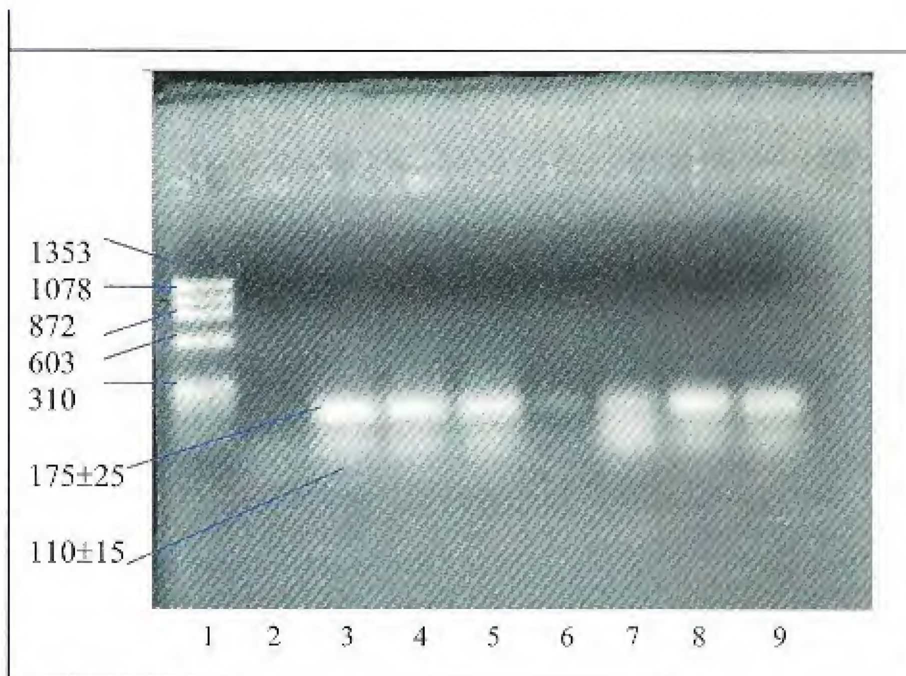
Talasemia merupakan kelainan gen globin yang diturunkan secara resesif autosom. Talasemia disebabkan oleh kira-kira 200 mutasi pada gen globin[21] yang menyebabkan rantai globin berkurang atau tidak ada. Jumlah rantai globin α dan β yang tidak seimbang pada penderita talasemia mengakibatkan adanya rantai globin yang tidak berpasangan. Rantai globin yang tidak berpasangan ini akan mengalami

presipitasi, yang melekat pada membran sel darah merah dan mengakibatkan otooksidasi membran.[22,23] Otooksidasi ini dapat menyebabkan terjadinya ikatan lintas silang antara protein membran sel darah merah, sehingga terjadi perubahan struktur membran sel darah merah.

Telah dilaporkan perubahan terjadi pula pada protein pita 3 akibat adanya otooksidasi membran, berupa tidak bisa diamatinya protein tersebut (tampak tipis) pada hasil elektroforesis protein dengan menggunakan SDS PAGE 10% dan disertai dengan munculnya pita tambahan (penebalan pita) yang berat molekulnya lebih kecil (± 80 kD). Disimpulkan protein tersebut telah mengalami degradasi menjadi molekul yang lebih kecil.[24]

Rusaknya membran sel darah merah yang disertai terjadinya hemolisis pada pasien talasemia, dapat disebabkan oleh adanya antibodi anti-protein pita 3. Sisi sitoplasma protein pita 3 merupakan tempat pengikatan oksihemoglobin dan badan Heinz.[22,25] Ikatan badan Heinz dengan sisi sitoplasma protein pita 3 akan mengakibatkan agregasi dan kopolimerisasi protein pita 3. Protein pita 3 yang telah mengalami modifikasi ini akan dikenali oleh antibodi anti protein pita 3. Selanjutnya sel darah merah tersebut difagositosis oleh makrofag limpa atau hati.[26] Pembentukan antigen pada permukaan sel darah merah ini dipicu oleh denaturasi hemoglobin, pembentukan hemikrom dan agregasi protein.[25]

Dari hasil elektroforesis produk PCR DNA protein pita 3 pasien talasemia terdapat 2 pita dengan besar molekul yang berbeda yaitu berukuran 175 ± 25 pb dan 110±15 pb. Sementara hasil elektroforesis produk PCR DNA normal (orang sehat) hanya terdapat 1 pita (pita bagian atas saja) yang berukuran 175 ± 25 pb terjadi delesi gen yang sebesar yaitu 65 ± 10 pb (Gambar 4).[27]



Gambar 4. Hasil Elektroforesis Gel Agarosa 2%: DNA Marker (Lajur 1), DNA Protein Pita 3 Pasien Talasemia (3,4,5,7,8,9) dan DNA Protein Pita 3 Normal (6).[27]

Penutup

Protein pita 3 merupakan protein transmembran sel darah merah di mana domain sitoplasmanya langsung berhubungan dengan protein sitoskeleton sehingga modifikasi protein pita 3 akan menyebabkan terganggunya interaksi antara protein sitoskeleton (spektrin β-ankirin) dengan protein pita 3, sehingga dapat terjadi penurunan kemampuan deformabilitas dan peningkatan rigiditas sel darah merah.[25] Protein pita 3 yang mengalami modifikasi dapat dikenali oleh antibodi anti protein pita 3 sehingga sel darah merah tersebut akan difagositosis oleh makrofag.[26] Menurunnya deformabilitas membran sel darah merah talasemia akibat rigiditas membran baik yang dapat disebabkan oleh kelainan gen ataupun beban oksidasi akan mengakibatkan membran sel darah merah pecah ketika melewati kapiler yang sempit. Ini merupakan salah satu faktor yang dapat mengakibatkan pendeknya usia sel darah merah

Di samping itu, adanya modifikasi protein pita 3 juga dapat mempengaruhi fungsi protein pita 3 sebagai protein penukar anion sehingga dapat mengakibatkan terganggunya transpor CO_2 dan O_2 melalui sel darah merah yang akan berpengaruh terhadap metabolisme individu talasemia itu sendiri, juga terganggunya transpor ion HCO_3^- dan Cl^- yang dapat menyebabkan peningkatan keasaman dalam sel darah merah.[1,2]

Daftar Pustaka

1. Passow H. The band 3 proteins. An introduction. *Progress in Cell Research* 1992;2:1-6.
2. Tanner MJA. Molecular and cellular biology of the erythrocyte anion exchanger (AE1). *Semin in Hematol* 1993;30(1): 34-57.
3. Alper SL. Molecular and cell biological aspects of the anion exchanger gene family. *Progress in Cell Research* 1992(2):9-14.
4. Voet D, Voet JG. *Biochemistry*. Ed2. New York: John Wiley & Sons, Inc.,1995.
5. Chasis JA, Mohandas N. Erythrocyte membrane deformability and stability: two distinnct membranne properties that are independently regulated by skeletal protein associations. *J Cell Biol* 1986;103:343-50
6. Mannu F, Arese P, Cappellini MD, Fiorelli G, Cappadoro M, Giribaldi G, Turrini F. Role of hemichrome binding to erythrocyte membrane in the generation of band 3 alterations in β-thalassemia intermedia erythrocytes. *Blood* 1995;86(5):2014- 20
7. Jarolim P, Hillard LR, Vaclay B, Ladislay C, Alexander S, Zolotarev S, Alper L, Carlo B, Hynek W, Jiri P. Mutation of conserved arginines in the membrane domain of erythroid band 3 lead to a decrease in membrane associated band 3 and to the phenotype of hereditary spherocytosis. *Blood* 1995;85(3):634- 40.
8. Rachmilewitz EA, Shinar R, Shalev O, Galili U, Schrier SL. Erythrocyte membrane alterations in β–thalassemia. *Clin Haematol* 1985;14:163- 82
9. Gerald Karp. Cell and molecular biology: concepts and experiments. 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc. New York 1999.
10. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Biokimia Harper (terj.) ed.24. EGC – Jakarta, 1997.
11. Tanner MJA, Martin PG, Stephen H. The complete amino acid sequence of the human erythrocyte membrane anion-transport protein deduced from the cDNA sequence. *Biochem J* 1998;256:703-12
12. Fujinaga J, X Tang, R Joseph. Topology of the membrane domain of human erythrocyte anion exchange protein, AE1. *J of Bio Chem.* 1999;274(10): 6626- 33
13. Richards SM, Marisa EJ, Guy V, Michel P. A spliced variant of AE1 gene encodes a truncated form of band 3 in heart : the predominant anion exchanger in ventricular myocytes. *J of cell sci.* 1999,112,1519-28
14. Alloisio N, Philippe M, Genevieve C, Pascale T, Agnes V, Faouzi B, Noel P, Jean D. Hereditary spherocytosis with band 3 deficiency. Association with a nonsense mutation of the band 3 gene (allele Lyon), and aggravation by a low-expression allele occurring in *trans* (allele Genas). *Blood* 1996;88(3): 1062- 69
15. Mohandas N, R Winardi, D Knowles, A Leung, M Parra, E George, J Conboy, J Chasis. Molecular basis for membrane rigidity of hereditary ovalocytosis, a novel mechanism involving the cytoplasmic domain of band 3. *J Clin Invest* 1992;89:686-92

16. Jarolim P, Palek J, Amato D, Hassan K, Sapak P, Nurse GT, Rubin HL, Sen Zhai, Shar KE, Chun Liu S. Deletion in erythrocyte band 3 gene in malaria-resistant southeast asian ovalositosis. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:11022-26
17. Yuwono. Resistensi sel darah merah dengan southeast asian ovalositosis (SAO) terhadap malaria: variasi resistensi yang berhubungan dengan etnis dan geografis. Tesis Magister Program Studi Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2002.
18. Gallagher PG, Bernard GF. Hematologically important mutations: band 3 and protein 4.2 variants in hereditary spherocytosis. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 1997;23(22):417-.21
19. IoLascon A, Emanuele MD, Silverio P, Nicole A., Laurette M, Jean D. Hereditary spherocytosis: from clinical to molecular defects. *Hematologica* 1998;83:240- 57.
20. Allosio N, P Texier, A Vallier, ML Ribeiro, L Morle, M Bozon, E Bursaux, P Maillet, P Goncalves, MJA Tanner, G Tamagnini, J Delaunay. Modulation of clinical expression and band 3 deficiency in hereditary spherocytosis. *Blood* 1997,90(1):414- 20
21. Olivieri NF. The β–thalassemias. *N Engl J Med* 1999;341:99-109.
22. Shinar E, Shalev O, Rachmilewitz EA, Schrier SL. Erythrocyte membrane skeleton abnormalities in severe β-thalassemia. *Blood* 1987;70:158-64.
23. Rachmilewitz EA. Pathologic changes of red blood cell membranes in thalassemia. *Birth Defects: Original Article Series*1982;18:219-22
24. Kurniati MMV. Analisis pola protein membran sel darah merah normal dan talasemia secara elektroforesis. Tesis Magister Program Studi Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 2000.
25. Shinar E, Rachmilewitz EA.Oxidative denaturation of red blood cells in thalassemia. *Semin Hematol* 1990;27:70-82.
26. Winterbourn CC. Oxidative denaturation in congenital hemolytic anemias: the unstable hemoglobins. *Semin hematol* 1990;27:41-50.
27. Dewajanthi AM. Identifikasi adanya kelainan gen protein pita 3 pada membran sel darah merah penderita talasemia β di pusat thalassemia RSCM / FKUI. Tesis Magister Program Studi Ilmu Biomedik, FKUI. 2004